

分担研究者：稲吉 恵 静岡県環境衛生科学研究所 微生物部 ウイルススタッフ 副主任

研究要旨 2003年から2006年の間に確認された新規未治療 HIV 感染者の、薬剤耐性遺伝子検査を行った。その結果、14件中1件にヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤（NRTI）に耐性を示す M184V の薬剤耐性変異が認められた。対象者が未治療の新規 HIV 感染者であるにもかかわらず、薬剤耐性変異が検出されたことは、新たな HIV 感染者への耐性ウイルスの伝播が増加することも危惧され、今後とも耐性ウイルスの動向に注意が必要であると考えられた。

A. 研究目的

HIV 感染症に対する治療は、プロテアーゼ阻害剤の認可と多剤併用療法の導入により、著しく改善された。しかし、抗ウイルス薬の使用に伴い、薬剤耐性変異をもつウイルスの出現が問題となっている。近年、薬剤耐性変異をもつ HIV-1 が新たに感染した未治療感染者からも報告されており、薬剤耐性 HIV-1 の未感染者への伝播が懸念されている。そこで、2003年から2006年の間に確認された新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査し、初感染者における薬剤耐性 HIV-1 の浸淫状況を明らかにする。

B. 研究方法

2003年から2006年までの間に確認された新規 HIV-1 感染者の血清あるいは血漿14検体を使用した。

血清または血漿よりウイルス RNA を抽出し、RT-PCR および nested PCR を行い、プロテアーゼ領域と逆転写酵素領域を増幅した。RT-PCR および nested PCR に使用したプライマーは、DRRT1L / DRRT4L - DRRT7L / DRRT6L（逆転写酵素領域）、DRPR05 / DRPR02L - DRPR01M / DRPR06（プロテアーゼ領域）である。増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。得られた塩基配列をアミノ酸配列に変換し、薬剤耐性変異の有無について調べた。逆転写酵素遺伝子のコドン 1-266 と、プロテアーゼ遺伝子のコドン 1

-99 について解析した。

（倫理面への配慮）

HIV 検査は匿名で行なっており、検体自体に個人識別情報が存在しないため、検査担当者が患者の氏名、生年月日など、個人情報にふれることはない。しかし、ヒト血液を検体とした研究を行なう以上、倫理的な配慮をかかすことはできない。そのため、個人情報保護とその家族の人権擁護のため、個人識別情報は含まないが、提供された情報および検査結果に関しては厳重に管理することを遵守する。

C. 研究結果

今回検査をおこなった14検体は、いずれも男性であり、年齢層としては20代3件、30代6件、40代3件、不明2件であった。また、年度ごとの検査数は、2003年3件、2004年4件、2005年5件、2006年2件であった。14検体のうち、逆転写酵素領域で11件、プロテアーゼ領域で13件からそれぞれ増幅産物が得られた。両領域とも増幅産物が得られなかった検体が1件あった。

増幅産物の得られた検体の中で、逆転写酵素遺伝子に耐性変異が認められたものが1件あり、ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤（NRTI）に耐性を示す M184V の変異であった。M184V の変異が認められたのは、2006年の検体であった。その他に逆転写酵素遺伝子では、T69I（1件）と T215D（1件）の変異が認められた。

プロテアーゼ遺伝子では、薬剤感受性に大きく

影響を及ぼす変異は認められなかった。しかし、すべての検体でプロテアーゼ遺伝子には何らかの変異が認められた。それら変異について(表1)に示した。

サブタイプ解析では、サブタイプ B が 11 件、サブタイプ CRF01_AE が 2 件、増幅産物が得られず解析不能であったものが 1 件であった。サブタイプ CRF01_AE が検出されたのは、2003 年 1 件、2004 年 1 件であった。M184V の薬剤耐性変異が認められた 1 件の HIV は、サブタイプ B であった。

D. 考察

今回検討した 14 件のうち 1 件より、ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤 (NRTI) に耐性を示す M184V の薬剤耐性変異が認められた。その他の検体およびプロテアーゼ遺伝子には、いずれも薬剤感受性に大きく影響を及ぼす変異は認められなかった。しかし、すべて治療歴のない新規 HIV 感染者であるにも関わらず、1 件の薬剤耐性変異が検出されたことは、新たな HIV 感染者への耐性ウイルスの伝播が増加することも危惧され、今後とも耐性ウイルスの動向に注意が必要であると考えられた。

E. 結論

2003 年から 2006 年の間に確認された新規未治

療 HIV 感染者の薬剤耐性遺伝子検査を行ったところ、14 件中 1 件から薬剤耐性変異が検出された。すべて治療歴のない新規 HIV 感染者であるにも関わらず、ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤 (NRTI) に耐性を示す M184V の変異が検出されたことは、新たな HIV 感染者への耐性ウイルスの伝播が増加することも危惧され、今後とも耐性ウイルスの動向に注意が必要であると考えられた。

F. 研究発表

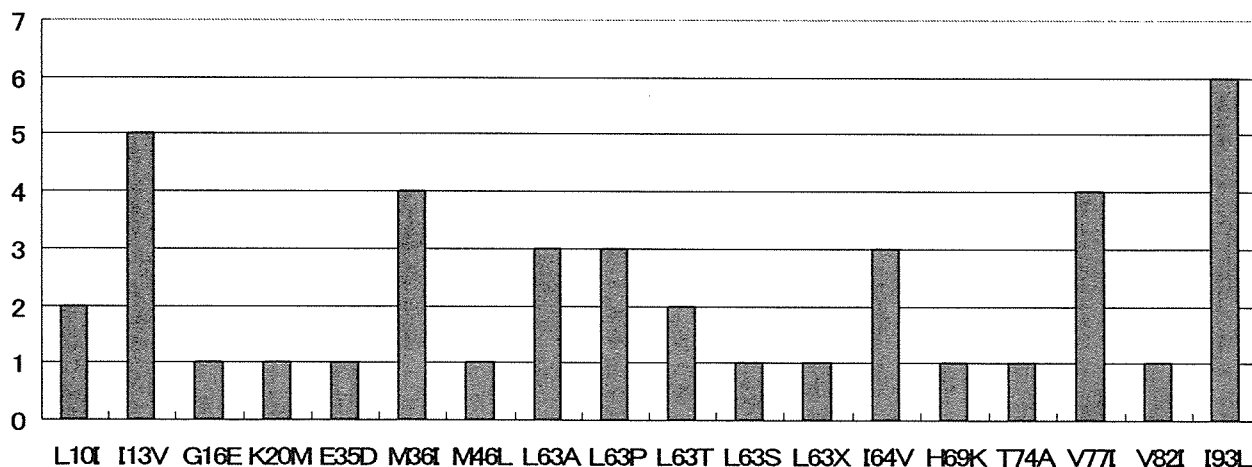
1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1. プロテアーゼ遺伝子にみられた変異

(のべ件数)



分担研究者 上田 幹夫 石川県立中央病院 血液免疫内科診療部長
研究協力者 正兼 亜季 財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント
山田三枝子 財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント
辻 典子 財団法人エイズ予防財団 リサーチレジデント
小谷 岳春 石川県立中央病院 血液免疫内科医長

研究要旨

北陸地方における新規感染者の薬剤耐性 HIV-1 伝播の現状を調査するために、北陸ブロック内の拠点病院に通知案内し、耐性検査を実施できる体制を整えた。

2003 年から 2006 年までに新規に HIV 感染が診断された 18 名に対して耐性検査を行った。18 名は全て慢性未治療患者であり、ほぼ全ての検体で耐性に関する部位に変異を確認したが、治療に影響を与えるような耐性変異は検出されていない。

サブタイプ解析の結果、サブタイプ B が 14 名、CRF01_AE が 1 名、CRF02_AG が 2 名であり、1 名はサブタイプ B と CRF01_AE のリコンビナントウイルスであることが確認された。

A. 研究目的

我が国における薬剤耐性 HIV-1 伝播の状況を把握するために、北陸ブロックにおける新規あるいは未治療慢性 HIV-1 感染者における薬剤耐性変異の頻度を調査する。また、北陸ブロック内の拠点病院間の連携を構築する。

同時にサブタイプ解析を行い、北陸ブロックにおける新規診断感染者の HIV-1 サブタイプの頻度について調査する。

へ置換後、HXB2 株と比較し変異を判定する。また env 領域についても同様に遺伝子配列を決定し、サブタイプ解析を行う。

患者には担当医から研究の説明を行い、同意書に署名を得た後、検査を行った。また、他施設からの検体は、依頼施設において記号化してもらいプライバシーの保護に配慮した。なお、本研究は石川県立中央病院倫理委員会にて承認されている。

B. 研究方法

「新規感染者耐性 HIV-1 サーベイランス プロトコール」に従い研究を行う。

新規に HIV 感染が診断された患者に対し、初診時、服薬開始前（必要に応じて服薬開始後 3 ヶ月）の検体について耐性検査を行う。同意取得後、保存血漿より HIV-1-RNA を抽出し、RT-PCR 法にて cDNA を合成した後増幅する。増幅させたサンプルを用いてダイレクトシーケンシング法で遺伝子配列を決定し、アミノ酸配列

C. 研究結果

2003 年から 2006 年の間に研究にエントリーしたのは 18 名で、新規急性感染の定義に当てはまる患者はおらず、全ての患者が慢性未治療者であった。

この 18 名の初診時の検体で耐性検査を行った結果、治療に影響するとされる変異は検出されなかったが、K103R を 1 名、T215S を 1 名、T215L を 2 名に確認した。プロテアーゼ領域では、17 名に図に示す変異が確認された。

服薬開始前に検査した3名に関しては、2名の変異箇所は初診時と同じであったが、1名では、初診時はL63L/P、H69N、V77Iの変異が確認されたが、服薬開始前にはL63P、H69K/N、A71A/T、V77Iの変異が検出され、変異部位が増えていた。

サブタイプ解析では、18名中14名がサブタイプB、CRF01_AEが1名、CRF02_AGが2名であった。2003年に診断され、pol領域とenv領域で異なるサブタイプを示した1例に関して、国立感染症研究所へ解析を依頼したところ、サブタイプBとCRF01_AEのリコンビナントウイルスであることが確認された。

D. 考察

2003年から2006年までに新たにHIV-1感染と診断された18名、21検体について耐性検査を行った。その結果、逆転写酵素領域、プロテアーゼ領域ともに治療に影響を及ぼすような耐性変異は無かったことから、北陸では全国平均と比較して耐性HIV-1の伝播は少ない可能性がある。しかし、V179Dが存在する場合、NNRTIに耐性を獲得すると報告されているK103Rや、T215Y/FのリバートラントであるT215Sなどが検出されていることから、今後も薬剤耐性変異の解析を継続していくことが重要と考えられる。

サブタイプBとCRF01_AEのリコンビナントウイルスも確認され、今後はこのようなリコンビナントウイルスの伝播やその臨床像についても注意を払う必要がある。

E. 結論

- 1) 2003～2006年に新規にHIV-1感染を診断された18名に対し、初診時、服薬開始前に耐性検査を行い、逆転写酵素領域にはK103R(1名)、T215S(1名)、T215L(2名)を認めた。プロテアーゼ領域には、17名に変異を認めたが、全てminor mutationであった。
- 2) 服薬開始前に検査した3名のうち、2名は初

診時と同じ変異であったが、1名は変異箇所が増えていた。

- 3) 18名のうち、12名がサブタイプB、1名がCRF01_AE、2名がCRF02_AGであった。
- 4) 1名にサブタイプBとCRF01_AEのリコンビナントウイルスが確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ・山川朋子, 木村和子, 小野俊介, 辻典子, 上田幹夫: 石川県の病院・診療所におけるHIV抗体検査の実態と初期対応. 日本エイズ学会誌8:163-168, 2006

2. 学会発表

- ・山田三枝子, 正兼亜季, 辻典子, 上田幹夫, 島村正喜, 朝本明弘, 筒井清広, 狩野恵彦: STD患者におけるHIV感染の現状(石川県立中央病院2003～). 第5回北陸STD研究会, 2004.7.
- ・山下郁江, 山田三枝子, 川本直子, 東啓子, 中野久美子, 登谷美知子, 笹倉洋子, 正兼亜季, 下川千賀子, 安田明子, 能島初美, 山下美津江, 脇水玲子, 宮下裕江, 辻典子, 前川実生, 西出節子, 上田幹夫: 感染症専門外来看護教育研修を通じた北陸ブロック拠点病院間の連携について. 日本エイズ学会誌6:435, 2004.
- ・山川朋子, 木村和子, 辻典子, 上田幹夫: 石川県の病院・診療所におけるHIV検査の実施と初期対応. 日本エイズ学会誌6:448, 2004.
- ・山田三枝子, 正兼亜季, 辻典子, 島村正喜, 朝本明弘, 筒井清広, 宮田勝, 村田秀治, 狩野恵彦, 上田幹夫: 性感染症(疑い)患者におけるHIV感染症の現状(石川県立中央病院2003年～). 日本エイズ学会誌6:456, 2004.
- ・鳴河宗聡, 安岡彰, 正兼亜季, 上田幹夫, 舟田久: 急性HIV感染症症候群の発熱と全身浮腫をきたした一例. 日本エイズ学会

- 誌 6 : 460, 2004.
- ・小川 哲, 正兼亜季, 上野朱美, 辻 典子, 山田三枝子, 上田幹夫 : CD4 陽性細胞数測定に関する検討(第 2 報). 日本エイズ学会誌 : 533, 2004.
 - ・林美紀子, 正兼亜季, 中村喜代美, 村田秀治 : HIV 抗体スクリーニング検査法の比較検討 - 各測定法の疑陽性率について -. 第 30 回北陸臨床病理集談会, 2005.9.
 - ・ Yamada Mieko, Yamashita Ikue, Kawamoto Naoko, Nakano Kumiko, Shimokawa Chikako, Wakimizu Reiko, Nojima Hatsumi, Yamashita Mitsue, Nishide Setsuko, Ueda Mikio : Practical Training for Nurses in HIV/AIDS Clinic - Experience in Hokuriku -. 7th ICAAP Abstract, 2005 ; 217.
 - ・ Ueda Mikio, Yamada Mieko, Masakane Aki, Tsuji Noriko, Yamashita Mitsue, Shimokawa Chikako, Miyata Masaru, Imai Yumiyo, Kimura Kazuko, Aoki Makoto : Growing Support Network for AIDS Medical Care and Prevention in Hokuriku Area. 7th ICAAP Abstract, 2005 ; 296.
 - ・山田三枝子, 山下美津江, 中宮久美子, 辻典子, 正兼亜季, 上田幹夫 : 北陸ブロック拠点病院からの出前研修に関する実践報告 - 第 1 報 - (医療機関). 日本エイズ学会誌 7 : 347, 2005.
 - ・山下美津江, 山田三枝子, 中宮久美子, 辻典子, 正兼亜季, 上田幹夫 : 北陸ブロック拠点病院からの出前研修に関する実践報告 - 第 2 報 - (福祉施設等). 日本エイズ学会誌 7 : 347, 2005.
 - ・正兼亜季, 辻 典子, 山田三枝子, 小谷岳春, 木村和子, 上田幹夫 : 北陸ブロック内保健所への HIV 抗体検査に関するアンケート調査結果. 日本エイズ学会誌 7 : 358, 2005.
 - ・浅黄 司, 金田次弘, 伊部史朗, 松田昌和, 吉田 繁, 津畑千佳子, 大家正泰, 近藤真規子, 貞升健志, 湯永博之, 正兼亜季, 佐藤克彦, 秦 眞美, 溝上康司, 森 治代, 南 留美, 渡邊香奈子, 岡田清美, 杉浦 互 : HIV-1 薬剤耐性遺伝子検査法に関するアンケート調査. 日本エイズ学会誌 7:359, 2005.
 - ・杉浦互, 湯永博之, 吉田 繁, 千葉仁志, 浅黄 司, 松田昌和, 岡 慎一, 近藤真規子, 今井光信, 貞升健志, 長島真美, 伊部史朗, 金田次弘, 浜口元洋, 上田幹夫, 正兼亜季, 大家正義, 渡辺香奈子, 白阪琢磨, 山本善彦, 森 治代, 小島洋子, 中桐逸博, 高田 昇, 木村昭郎, 南 留美, 山本政弘, 健山正男, 藤田次郎 : 新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性の頻度に関する全国疫学調査 - 2003 年から 2004 年にかけての報告 -. 日本エイズ学会誌 7 : 363, 2005.
 - ・能島初美, 早川 優, 岡部孝一, 高木純一郎, 名倉 功, 山田三枝子, 上田幹夫, 宮田 勝 : 当病院における HIV/AIDS 患者の歯科診療の現状とチーム医療との関わり. 第 7 回日本 HIV 歯科医療研究会総会, 2006.1.
 - ・H Gatanaga, T Koike, T Asagi, H Tsukada, M Kondo, A Masakane, T Kaneda, H Mori, R Minami, Wataru Sugiura, and Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network : Multi-center Nationwide Survey of Drug-Resistant HIV-1 in Newly Diagnosed HIV/AIDS Patients in Japan from 2003 to 2004. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 2006.2
 - ・宮田 勝, 能島初美, 岡部孝一, 高木純一郎, 名倉 功, 早川 優, 辻 典子, 山田三枝子, 上田幹夫 : HIV 感染者/AIDS 患者の歯科診療の現状と今後の病医院との連携のあり方について. 第 58 回近畿北陸地区

歯科医学大会, 2006.11.19, 神戸.

- ・今井由三代, 中崎しげ子, 吉田眞知子, 西田和子, 山下美津江, 山田三枝子, 北志保里, 辻 典子, 正兼亜季, 上田幹夫: 北陸ブロックにおける NGO の役割. 日本エイズ学会誌 8 : 318, 2006
- ・本間隆之, 田辺貴幸, 下川千賀子, 森 正昭, 上田幹夫, 木村和子: エイズ診療拠点病院に勤務する薬剤師の意識調査. 日本エイズ学会誌 8 : 342, 2006
- ・山田三枝子, 山下美津江, 今井由三代, 北志保里, 辻 典子, 正兼亜季, 上田幹夫: グループ活動への試み - 「女性(患者・家族)の会」の活動から考える -. 日本エイズ学会誌 8 : 363, 2006
- ・中野久美子, 小谷岳春, 山田三枝子, 上田幹夫: 劇症型赤痢アメーバ腸炎から人工肛門造設となった HIV 感染者に対する支援. 日本エイズ学会誌 8 : 389, 2006
- ・藤野真之, 瀧永博之, 吉田 繁, 千葉仁志, 伊藤俊広, 浅黄 司, 松田昌和, 岡 慎一, 近藤真規子, 今井光信, 貞升健志, 長島真美, 伊部史朗, 金田次弘, 浜口元洋, 上田幹夫, 正兼亜季, 大家正義, 渡辺香奈子, 白阪琢磨, 森 治代, 小島洋子, 中桐逸博, 高田 昇, 木村昭郎, 南 留美, 山本政弘, 健山正男, 藤田次郎, 杉浦互: 2003-2005年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向. 日本エイズ学会誌 8 : 409, 2006
- ・藤崎誠一郎, 藤崎彩恵子, 伊部史朗, 浅黄司, 吉田 繁, 正兼亜季, 大家正泰, 渡邊香奈子, 瀧永博之, 松田昌和, 貞升健志, 岡田清美, 近藤真規子, 秦 眞美, 溝上泰司, 森 治代, 南 留美, 杉浦 互, 金田次弘: HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のバリデーション. 日本エイズ学会誌 8 : 414, 2006
- ・小谷岳春, 上田幹夫, 山田三枝子, 山崎雅英, 青木 眞: 劇症型赤痢腸炎にて大腸全摘、小腸亜全摘後に HAART を導入した HIV 感染患者の経験. 日本エイズ学会誌

8 : 449, 2006

- ・山田三枝子, 山田里佳, 辻 典子, 正兼亜季, 北志保里, 木村和子, 小谷岳春, 上田幹夫: 石川県における病院・診療所での HIV 抗体検査実施状況の調査結果(H16~17年). 第 19 回日本性感染症学会誌 Vol.17, No.2 : 85, 2006

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

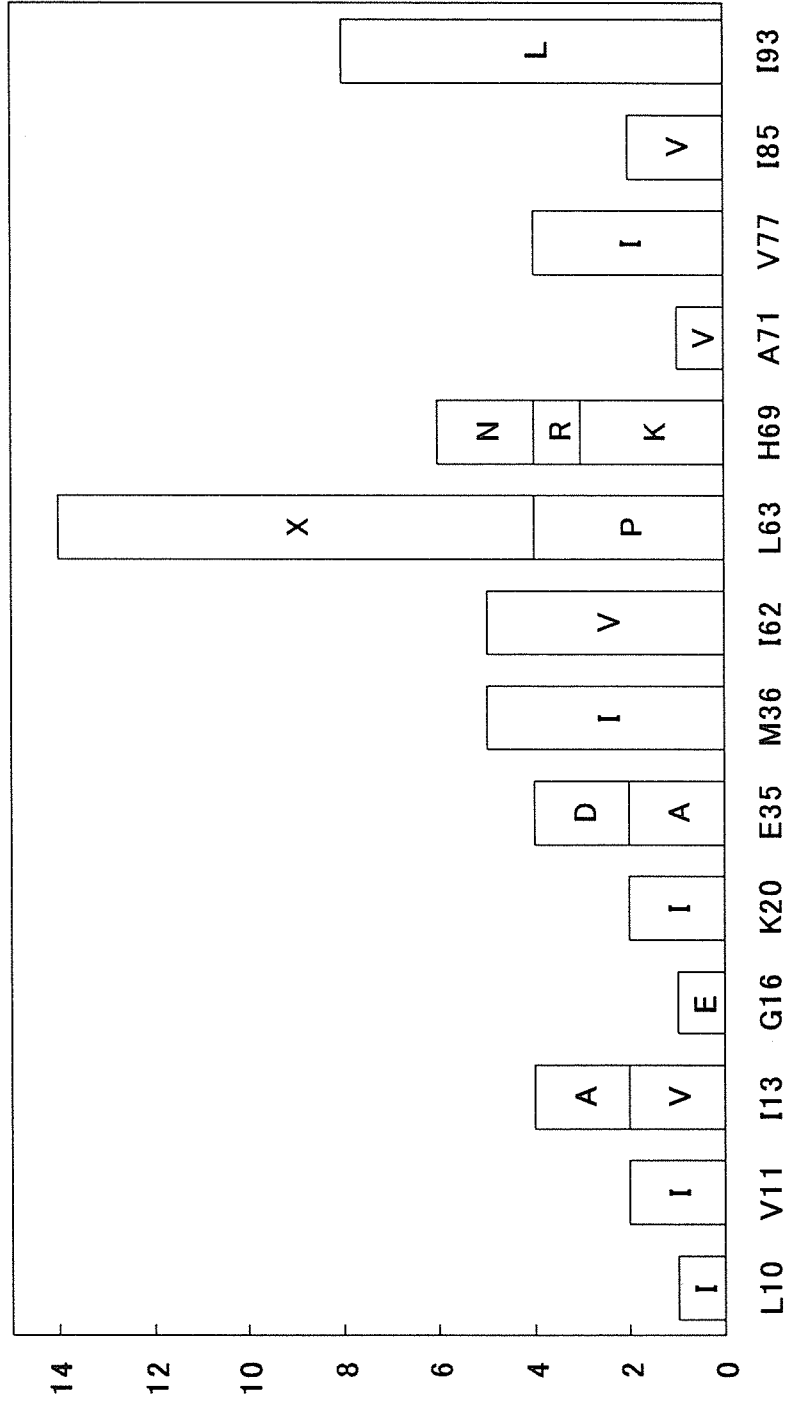
3. その他

なし

【図】

プロテアーゼ領域の変異 (2003～2006年)

(初診時18名)



* L63X; A, S, N, T, X

「中国・四国地区における薬剤耐性HIV-1調査体制確立のための研究」

分担研究者：木村昭郎（広島大学原爆放射線医科学研究所 血液内科 教授）

研究協力者：高田 昇、藤井輝久（広島大学病院輸血部）、喜花伸子（同エイズ医療対策室）

【研究要旨】 2004年1月1日から2006年12月31日までの3年間に、広島大学病院血液内科を初めて受診したHIV-1感染者のうち、抗HIV薬による治療未経験のもの30人に薬剤耐性遺伝子型検査を実施した。感染後半年以内と推定できる4人、初診時エイズ発病例14例を含んでいる。無症候性感染の1例に逆転写酵素領域K103T+V179D変異、エイズ発病例に同M184V変異とプロテアーゼ領域I84V変異がみられ、耐性HIV-1の伝播であった可能性が推察された。新規診断患者での薬剤耐性変異の頻度は急速に増加しているとは考えられなかった。

A.研究目的

直近3年間の新規HIV感染者・エイズ患者に遺伝子型検査を実施することにより、広島地方における薬剤耐性HIVの発生動向を把握することを目的とした。

B.研究方法

対象は2004年1月1日から2006年12月31日までの3年間に、広島大学病院血液内科を初めて受診したHIV-1感染者のうち、抗HIV薬による治療未経験のものとした。本人に文書による説明を行い、同意を得たものについて採血を行った。血漿を分離し国立感染症研究所エイズ研究センター杉浦研究室に送付した。検体は別に述べた方法によってHIV-1の遺伝子配列から逆転写酵素領域と、プロテアーゼ領域のアミノ酸変異を同定した。海外渡航歴がある日本人と外国人についてはサブタイプの検討も行った。特に感染者の病期を考慮して考察を行う。

本稿ではHIV感染症の臨床病期を次のように分類した。病期は進行性とし、仮に症状が軽快しても低い病期には戻さないものとした。

病期1：急性感染症 半年以内に感染したと思われる病歴と症状があったもの。

病期2：無症候感染 感染時期不明で日和見感染症状や血小板減少などが無いもの。

病期3：進行期感染 エイズ指標疾患以外の日和見感染症や血小板減少を示すもの。昔、ARC(AIDS Related Complex)と呼称していた状態に準じている。

病期4：エイズ 厚労省のエイズ指標疾患をもつもの。

倫理面への配慮

検体は研究協力者ですべて記号化を行い、患者のプライバシーに触れることがないように配慮した。

C.研究結果

C-1.患者背景について

広島大学病院血液内科には2004年1月1日から2006年12月25日現在まで、38人(男性36人、女性2人)のHIV感染者の新規受診があった【表1】。年齢は20才～53才(平均：36.1±8.2才)であった。日本人34人、外国人4人であり、国籍はブラジル、スリランカ、ウクライナ、ケニアであった。セカンドオピニオンを求めて紹介受診した凝固因子製剤による感染者(日本人男性)が2人、転居に伴って他院から転院となった感染者は3人であった。この5人を除いた33人中18人がHIV感染者、15人がエイズ患者で45%を占めた。つまり遅れて診断される例が多かった。

感染経路は表のように、女性では異性間性的接触、男性では血友病を除く34人中4人が異性間の性的接触、30人が同性間の性的接触であった。

C-2.HIV-1のサブタイプについて

HIV-1のサブタイプではウクライナ人はサブタイプE、スリランカ人とケニア人ではサブタイプAであった。アフリカとアジアへの滞在歴が長い日本人はサブタイプAであった。ブラジル人については検討しなかった。

C-3.抗HIV薬耐性遺伝子検査を実施した患者

本稿で示した病期別の患者一覧を、性別、年代、感染経路、CD4細胞数、HIV RNA量、逆転写酵

素領域、プロテアーゼ領域の変異アミノ酸として示した【表2】。

C-3-1.急性感染例

病期1とした、半年以内に感染したと思われる急性感染の4例では、1例を除いてCD4細胞数が保たれ(682±297)、ウイルス量も多め(4.77±0.50 Log)であった。4例中2例では複数の変異が見られたが、いずれも多型であり、明らかな薬剤耐性例はなかった。

C-3-2.無症候感染例

病期2とした無症候感染の6例では、CD4細胞数は(616±244)5例がCD4数350以上であり、全例がウイルス量も(3.44±0.34 Log)10の3乗台であった。6例全例に変異が認められた。このうち逆転写酵素領域のK103T+V179Dのみが耐性変異と考えられ、これ以外では多型と考えられた。

C-3-3.進行期感染例

病期3とした進行期6例では、CD4細胞数(203±104)が350未満のものが5例、ウイルス量(5.01±0.53 Log)も全例が10の4乗台以上であり、進行した病期の患者であった。検索した全例に変異が認められたが、耐性変異と考えられる例はなかった。

症例番号15はサブタイプAであり、プロテアーゼ領域のL10I, G16E, K20R, E35D, M36Iという変異も非サブタイプBの多型と考えられた。

C-3-4.エイズ期例

病期4としたエイズ例14例の中では、CD4細胞数(98±97)は悪性リンパ腫と結核例でCD4細胞数が200以上であったが、その他では200未満であった。また全例がウイルス量(5.18±0.47 Log)も10の4乗台以上と高かった。14例中変異がなかったのは4例のみであった。

このうち逆転写酵素領域のM184V変異と、プロテアーゼ領域のI84Vの変異がみられた1例では明かな薬剤耐性と思われた。本例では薬剤耐性検査を実施する3ヶ月前から急性B型肝炎に対してラミブジンが使用されていたので、M184Vはこれが原因であった可能性が高いと考えられたが、I84Vについては耐性の伝播である可能性がある。

C-3-5.夫婦例について

症例番号23と24は夫婦例であり、24の夫から23の妻への感染例である。24ではプロテアーゼ領域に4箇所の多型を持っているが、妻は2箇所の変異がある。HIV-1は多重感染があるとすれば、元々のストレインが変異を持っていて一部失われたか、変異数の少ないストレインの感染が起こったのかわからない。その後二人ともスタブジン+ラ

ミブジン+ネビラピンで治療を行い、良好な経過をたどっている。

D.考察

本研究の背景に、HAART時代に入って患者の生存期間が延びることに比例して、抗HIV薬に対する耐性の獲得も増加したのではないかと、また服薬例を介して薬剤耐性HIVの蔓延が発生するのではないかとという危惧がある。このため新規に診断される感染者の中の薬剤耐性HIVの頻度をモニターして、予防対策に役立てることが企画されてきた。

今回、様々な病期にある未治療の新規感染者30人について薬剤耐性変異について検討したところ、無症候性感染の1例に逆転写酵素領域K103T+V179D変異、エイズ発病例1例に、逆転写酵素領域のM184V変異とプロテアーゼ領域I84V変異がみられ、耐性HIV-1の伝播であった可能性が示された。単純には7%の頻度と言うことになり、これまでの日本の傾向にくらべて距たりはないものと思われた。

薬剤耐性HIVの発生は、薬剤の問題、患者の問題、患者・医療者の相互関係の問題が背景にあると指摘されてきた。このため薬剤の改良、すなわち有効性を高め副作用を減らすこと、飲みやすい剤型・ピル数・服薬条件・保存条件の改良が行われた。また医療現場では患者教育など服薬のための環境に配慮が行われてきた。

本研究では言及していないが、最近治療を開始された感染者では治療失敗率が非常に低下している。HIV複製を効果的に抑制できるようになったということは、現在の服薬患者からの新しいHIV感染の危険性が低下している可能性がある。

E.結論

今回、様々な病期にある未治療の新規感染者30人について薬剤耐性変異について検討したところ、2例に薬剤耐性変異を持つHIV-1が同定され、耐性HIV-1の伝播であった可能性が示された。頻度としては最近のわが国の報告と同程度であった。有効で安全な抗HIV療法と医療体制の改善によって、薬剤耐性HIVの発生や蔓延にブレーキをかけることができる可能性がある。今後も観察を継続する必要がある。

G.研究発表

論文発表

- 1) 山口扶弥、藤井宝恵、中田佳子、大江昌恵、喜花伸子、高田 昇：エイズ看護師初期研修会の評価 中国四国地方のHIV/AIDS診療の現状と今後の課題 看護実践の科学 29(4):70-75, 2004.
- 2) 藤井輝久、畝井浩子、河部康子、高田 昇、木村昭郎：HIV/HCV重複感染の血友病患者にお

ける生体肝移植例 日本エイズ学会誌 6(4):414, 2004.

3) 藤田啓子、畝井浩子、富田隆志、高田 昇、木村昭郎、木平健治：ロピナビル／リトナビル（カレトラ）の併用によりタクロリムス血中濃度上昇を来した肝移植例 日本エイズ学会誌 6(4):415, 2004.

4) 喜花伸子、大江昌恵、河部康子、畝井浩子、藤井輝久、内野悌司、兒玉憲一、高田 昇、木村昭郎：広大病院のHIV医療チーム内のカウンセラーの役割～感染者－医療者間のコミュニケーションの改善に向けて～ 日本エイズ学会誌 6(4):427, 2004.

5) 河部康子、大江昌恵、喜花伸子、木下一枝、望月陵子、磯亀裕子、州濱扶弥、藤井宝恵、高田昇、木村昭郎：中四国拠点病院における看護師対象の研修会の評価と今後の課題 日本エイズ学会誌 6(4):434, 2004.

6) 喜花伸子、河部康子、高田 昇、木村昭郎、内野悌司、兒玉憲一：HIV感染症の心理的援助に関する血液疾患との対比による研究～死に関する話題を中心に～ 総合保健科学 21:33-42, 2005.

7) 高田 昇：HIV感染の可能性を伝えて早期に患者さんを見つけること 広島市医師会だより 7:4-5, 2005.

8) 藤井輝久、高田 昇、河部康子、石川暢恒、木村昭郎：広島大学病院におけるHIV/HCV重複感染患者の実態 日本エイズ学会誌 7(4):345, 2005.

9) 石川暢恒、高田 昇、河部康子、喜花伸子、大江昌恵、大下由美、畝井浩子、藤井輝久、木村昭郎、杉浦 亙：半年以内に感染したと推定されるHIV感染症の9例 日本エイズ学会誌 7(4):362, 2005.

10) 杉浦 亙、瀧永博之、吉田 繁、千葉仁志、浅黄 司、松田昌和、岡 慎一、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真美、伊部史朗、金田次弘、浜口元洋、上田幹夫、正兼亜季、大家昌義、渡辺香奈子、白阪琢磨、山本善彦、森 治代、小島洋子、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、健山正男、藤田次郎：新規HIV感染者における薬剤耐性の頻度に関する全国疫学調査－2003年から2004年にかけての報告 日本エイズ学会誌 7(4):363, 2005.

11) 篠澤圭子、山元泰之、青木 眞、味澤 篤、菊池 嘉、木村 哲、白阪琢磨、高田 昇、花房秀次、三間屋純一、松宮輝彦、福武勝幸：国内未承認エイズ治療薬等を用いたHIV感染症治療薬及びHIV感染症至的治療法の開発に係る応用研究 日本エイズ学会誌 7(4):401, 2005.

12) 藤井輝久：中四国地方のHIV/AIDSの現状前編 広島県医師協だより 426:7-10, 2006.

13) 藤井輝久：中四国地方のHIV/AIDSの現状後編 広島県医師協だより 427:8-10, 2006.

14) 藤井輝久、高田昇、畝井浩子、木平健治：抗HIV薬の留意すべき相互作用 薬局 57:29-33, 2006.

15) 藤井輝久：HIVの感染経路 診断と治療 94:2214-2217, 2006.

16) 藤井輝久、高田昇、齊藤誠司、石川暢恒、木村昭郎、藤田啓子、畝井浩子：HIV関連肺高血圧症に対するボセンタンとプロアテーゼ阻害剤との併用 日本エイズ学会誌 8:253, 2006.

17) 高田昇：エイズ検査を勧めるのが上手になるには学習と慣れが大切「平成18年度エイズ相談研修会」 広島県医師会だより 483:3-4, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

【表1】2004年～2006年度の新規受診HIV感染者の内訳

診断区分	感染経路	日本国籍		外国国籍		合計	
		男	女	男	女	男	女
HIV	異性間的接触	0	0	1	1	1	1
	同性間的接触	19	0	0	0	19	0
	静注薬物乱用	0	0	0	0	0	0
	母子感染	0	0	0	0	0	0
	その他・不明	0	0	0	0	0	0
	HIV合計	19	0	1	1	20	1
AIDS	異性間的接触	3	0	0	1	3	1
	同性間的接触	11	0	1	0	11	0
	静注薬物乱用	0	0	0	0	0	0
	母子感染	0	0	0	0	0	0
	その他・不明	0	0	0	0	0	0
	AIDS合計	14	0	1	1	14	1
凝固因子製剤による感染		1	0	1	0	2	0

「関東甲信地区における薬剤耐性 HIV-1 調査体制確立のための研究」

分担研究者 下条文武（新潟大学大学院医歯学総合研究科臨床感染制御学分野 教授）

研究要旨

新潟県を中心に北関東、信越地区の医療機関から収集した HIV 新規登録感染者 19 名について、感染ウイルス RNA の塩基配列を解析した。検査対象のうち 15 名は異性間の性行為で感染しており、ウイルスのサブタイプ別では CRF01_AE が 9 例、B が 10 例で、全国データと比較して CRF01_AE の割合が著しく高かった。1 例に NNRTI 耐性に関わる変異 (V108I) を認めたほか、耐性株からの復帰変異を疑わせる変異が 3 検体に見出された。

A. 研究目的

抗 HIV 薬多剤治療によってエイズ死亡は顕著に減少し、患者の延命がもたらされている一方、長期にわたる薬剤使用は必然的に耐性ウイルスの増加を招いており、ひいては今後のエイズ治療を困難にする恐れが指摘されている。われわれは新潟県を中心に、北関東、信越各県の医療機関から提供されるサンプルに含まれる HIV RNA を解析して薬剤耐性変異の有無を通知するサービスをおこなっており、このうち新規登録患者分のデータを本研究班の HIV 感染データベースの作成に提供してきた。研究班継続期間中におこなった新規感染 19 検体の解析結果を記すとともに、これまでに得られたデータから、新潟県とその周辺の HIV 感染の現状を考察する。

B. 研究方法

医療機関から送付された EDTA 添加患者血液（～7ml）を到着後直ちに遠心分離し（3,000rpm×10min）、血漿を分離した。血漿 0.2 ml から High Pure Viral RNA kit®（Roche, 1858-882）を用いて RNA を抽出し、50μl の溶出バッファーに回収して-90℃で保存した。

ウイルス RNA の塩基配列の決定は RT, protease, env (C2/V3), gag (p17) の各領域についておこなった。RNA サンプル 5～10 μl を RT-PCR 法で増幅した後（One-step RNA PCR Kit®, TaKaRa RR024A）、反応液の一部（5μl）を nested PCR により再増幅して、シーケンシングに供した。PCR 反応に用

いたプライマーは、RT 領域：

5'-ATGATAGGGGAATTGGAGGTTT-3'/5'-TACTTC
TGTTAGTGCTTTGGTTC-3' (1st, nt2388-3425), およ
び 5'-GACCTACACCTGTCAACATAAT-3'/5'-TAATCC
CTGCATAAATCTGACT-3' (2nd, nt2485-3372),
protease 領域：5'-AGACAGGYTAATTTTTAGGGA-3'/
5'-TATGGATTTTCAGGCCCAATTTT-3' (1st, nt2074-
2716), および 5'-AGAGCCAACAGCCCCACCAG-3'/
5'-ACTTTTGGGCCATCCATTCC-3' (2nd, nt2148-
2611), C2/V3 領域：5'-CATACATTATTGTGCCCCGG
CTGG-3'/5'-AGAAAAATCCCCTCTACAATTA-3' (1st,
nt6866-7374), および 5'-AATGTCAGCTCAGTACAA
TGCACAC-3'/5'-ATTTCTGGGTCCCCTCTGAGG-3' (2nd,
nt6945-7336), p17 領域：5'-ATCTCTAGCAGTGGCG
CCCGAACAG-3'/5'-CTGATAATGCTGAAAACATGGGTAT-3'
(1st, nt625-1318), および 5'-CTCTCGACGCAGG
ACTCGGCTTGCT-3'/5'-CCCATGCATTCAAAGTTCTAGGTGA
-3' (2nd, nt 683-1255) である。シーケンシング
反応は BigDye® Terminator v3.1 Cycle
Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いて
おこない、ABI PRISM®310 Genetic Analyzer によ
り解析した。

薬剤耐性変異は被検配列を参照配列 (HXB2) と比較した上、International AIDS Society (IAS)-USA 2006 の基準に基づいて同定した。ウイルスのサブタイプの同定はおもに C2V3 領域の BLAST によるホモロジー検索によりおこなった。

(倫理面への配慮)

血液サンプル受け入れの際、医療機関には疫学調査に必要な患者に関する情報を、本人の同意の下に通知することを求めているが、これらには氏名、住所などただちに本人の特定に結びつく項目は含まれない。文書で通知された内容は直ちにデジタル化した後、元書類をシュレッダーで切断廃棄しており、転記したファイルは暗号化して保存するなど、個人情報漏洩により患者が不利益を蒙る恐れを最小にとどめるよう配慮している。

C. 研究結果

解析したサンプル 提供医療機関の所在地別に見た新規登録サンプル数は新潟 10 件、群馬 2 件、茨城 4 件、長野 3 件であった。提供者の性別は男性 14 名、女性 5 名。年齢は 20 歳代 7 名、30 歳代 6 名、40 歳代 3 名、50 歳代 3 名となっている。男性の平均年齢は 37.9 歳、女性は 32.2 歳で、男性の年齢層が幅広いのに対し、女性の大半は 20 歳代である。国籍は日本 18、外国籍 1、感染地は国内 15、国外 2、不明 2 であった。全て性的な感染と報告されており、男性感染者の 4 名が同性間感染、10 名が異性間感染とみられる。サンプリングは初診時 (7 件)、または薬剤治療開始時 (12 件) におこなわれているが、感染時期が推定されているものの大部分は感染後 5 年以上 (最長 14 年) が経過している。感染ウイルスのサブタイプは B が 10 例、CRF01_AE (AE) が 9 例で、全国的傾向と比較して AE の比率が極めて高い。

薬剤耐性変異 これまでに得ているヌクレオシド系 (NRTI)、非ヌクレオシド系 (NNRTI) 逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬 (PI) の耐性に関わる変異の発生頻度を末尾の表に示した。表には新規登録分 (未治療群) に加え、治療中の患者サンプルの結果も掲げている。未治療群の感染ウイルスに見出された薬剤耐性に関わる変異は NNRTI に対する 1 例 (V108I) のみであった。この耐性発生頻度 (1/19) は全国水準とほぼ同等で、北関東、信越地域において特に耐性ウイルスが広がっている兆候は見られないといえる。ただし、野生株とは

異なるアミノ酸をコードし、同一部位に強い薬剤耐性を起こしうる変異が 3 件新規登録検体中に見出されている (T69A, L210F, T215E 表中アステリスクで表示)。これらは自身強い薬剤耐性には結びつかないが、耐性ウイルスからの復帰変異株である可能性は考えられる。

新潟県周辺における HIV 感染の状況 これまでに新潟県内の 26 名の感染者について、ウイルス RNA のシーケンシングをおこなっている。感染者の性別・感染経路別内訳、ウイルスサブタイプの割合を末尾の図に示した。

全国的にみて HIV 感染者の約 9 割は男性であり、うち 6~7 割は同性愛者であると推定されている。一方、われわれが解析したサンプルの男女比は約 2:1 で、男性からのサンプルの多数は異性間感染が占める。HIV 感染者は地元の医療機関を避けて診断・治療を受けがちであるが、男性同性愛者に特にその傾向が強いとするならば、新潟県におけるサンプリングの偏りも説明が可能と思われる。東京からの日帰り圏内にある新潟県では特にこの傾向が顕著であるのかもしれない。

新潟県で採集されたサンプルのもうひとつの特徴として、ウイルスのサブタイプの偏りが挙げられる。全国的に見ると感染ウイルスの圧倒的多数はサブタイプ B に属し、これに次ぐ AE の頻度は 1 割程度に過ぎない。しかしながら、新潟県でこれまでに解析されたウイルスをみると、サブタイプ B と AE の割合がほぼ拮抗しており、特に女性の場合サブタイプ B の感染例を認めない。周辺県から採取されたウイルスも含め、AE ウイルスのシーケンスを RT, protease, env, gag の各領域について比較したが、このなかにとくにつよい相同性を示す複数のウイルスは見出されなかった。したがって、サブタイプ比の偏向はこの地域に固有の優先的流行株の存在を意味するものではないが、それがなぜ生じたのか明確な理由は見つかっていない。

新潟県以外の感染についても、解析したサンプル数はすくないものの、性別、サブタイプ比など上述の特徴はほぼそのまま当てはまる。

D. 考察

HIVの薬剤治療は長期にわたり、その間に患者体内のウイルスに耐性変異が蓄積するのは避けがたい。われわれが行っている解析では治療期間が3年を超えるケースのほとんどに1箇所以上の耐性変異が検出されている。新規登録感染者からえられたサンプルの耐性変異検出頻度が約5%と低いことは、既治療者からの感染拡大がそれほど多くないことを物語っているといえよう。耐性ウイルスの多くが薬剤の非存在下ではfitnessが低く復帰変異を起こしやすいこと、本解析に供されたサンプルの多くが感染後相当の時日を経過していることを勘案すると、この数字がそのまま初感染時の状況に適用できるか疑問は残るが、耐性ウイルスの広がりには現段階では実地の治療に影響するまでには至っていない。

新潟県とその周辺で採取されるウイルスのサブタイプ比が全国データと大きく異なる点について、ある程度閉じた形で地域内感染が広がっていることが考えられたが、ウイルスの系統学的な比較解析の結果、このような可能性をほぼ否定された。この地域の感染は首都圏など地域外で生じるケースが大部分と見るのがむしろ妥当と考えられる。しかし、サブタイプ比の問題は首都圏など高発生地域からの単なるリークによる感染だけでは説明できず、感染機会になんらかの強い偏りがあることを意味するのかもしれない。一定の解答を得るには、他地域で採取されたウイルスとの間でシーケンスの比較をおこなうなど、より大規模な解析が必要になると思われる。

これまでに行ったわれわれの解析の大きな弱点となっているのが、北関東・信越地域においてもおそらくHIV保有の主体と考えられる男性同性愛者のデータが乏しい点である。多くは東京など他地域の医療機関を受診していると考えられ、治療の長期化とともに地元に戻って治療を受けるケースも散見されるが、こうした例ではウイルスの血中レベルが低く抑えられており、いまだ解析に至っていないことが多い。そのデータは感染状

況の把握の上で不可欠であり、解決が求められる課題となっている。

E. 結論

本研究班の研究分担期間中、北関東・信越地区の医療機関から提供されたHIVサンプルのシーケンス解析を行い、当該地区における薬剤耐性ウイルスの浸淫状況の一端を明らかにした。新規登録感染者に関しては耐性変異の頻度は軽微で、現状では薬剤治療に影響するレベルには至っていないといえる。

ウイルスのシーケンスから得られる情報は薬剤耐性変異の検出にとどまらず、分離ウイルス間の近縁度の推定など感染疫学上より踏み込んだ解析をおこなうことを可能にする。全国規模でおこなわれた本研究班のデータを有機的に活用することにより、わが国におけるHIVの感染状況をより詳しく解明することが求められよう。

F. 健康危険情報

特記すべき事項無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

原著論文による発表

欧文

1) Moro H, Tsukada H, Tamuma A, Shirasaki A, Iino N, Nishibori T, Nishi S, Gejyo F: Rhabdomyolysis after simvastatin therapy in an HIV-Infected patient with chronic renal failure. *AIDS patient care and STDs* 18: 687-690, 2004

和文

1) 山中 正文、高木 律男、下条 文武、塚田 弘樹、内山 正子：北関東甲信越地区の病院により管理されているHIV感染者の実態調査—歯科治療に関するアンケート調査から—

日本エイズ学会誌 第8巻 第3号 p154-162, 2006

2. 学会発表

口頭発表

国内

- 1) Tsukada H, Imai A, Makino M, Uchiyama M, Gejyo F: HIV encephalopathy worsened during HAART. (Seventh International Congress on AIDS in Asia and the Pacific/2005.7.1-7.5, Kobe, Japan)
- 2) 鈴木 信明、坂上亜希子、太田 求磨、田邊嘉也、西堀 武明、竹田 徹朗、塚田 弘樹、下条 文武: ネフローゼ症候群を来した多剤耐性 HIV 感染症例に対する TDF の使用経験(第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会 2005.12.1-12.3、熊本)
- 3) 山中 正文、高木 律男、下条 文武、塚田 弘樹、内山 正子: HIV 感染者に対する歯科診療体制整備に向けて一歯科医師へのアンケートより一(第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会 2005.12.1-12.3、熊本)
- 4) 加沢 敏広、田邊 嘉也、竹田 徹朗、塚田 弘樹、上野 光博、下条 文武: ファンコニー症候群を認めた HIV 感染症患者の 1 症例 (第 118 回日本内科学会信越地方会 2006.5.27, 上越)
- 5) 須貝 恵、田邊 嘉也、内山 正子、塚田 弘樹、下条 文武: 関東甲信越エイズ治療拠点病院リスト<医療者用>についての検討 (第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会 2006. 11.30-12. 2、東京)
- 6) 牧野麻由子、村松芳幸、田邊嘉也、下条文武: 関東甲信越ブロックにおける相談体制の現状と課題ー抑うつ感・不安感との関係を中心にー (第 20 回日本エイズ学会学術集会・総会 2006. 11.30-12. 2、東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記事項なし

表. 薬剤耐性変異の発生頻度

	未治療群 (N=19)	治療群 (N=20)		未治療群 (N=19)	治療群 (N=20)
<i>NRTI</i>			I84V	0	1
M41L	0	4	N88S	0	2
D67N	0	3	L90M	0	2
T69_ins	1*	0	<i>PI (minor)</i>		
M184VI	0	8	L10FI	2	7
L210W	1*	2	I13V	7	11
T215YF	1*	2	K20M	1	7
K219QE	0	2	L33V	1	0
<i>NNRTI</i>			M36ILV	9	15
K103N	0	4	F53L	0	1
V108I	1	1	I62V	0	2
Y188C	0	1	L63P	6	8
P236L	0	1	H69K	10	17
<i>PI (major)</i>			A71VL	1	1
D30N	0	1	G73A	0	1
M46IL	0	4	V77I	6	2
V82A	0	1	I93LM	6	7

図 1. 新潟県における感染者の性別・感染経路

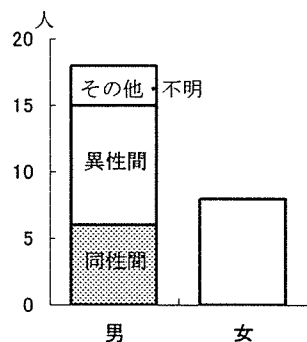
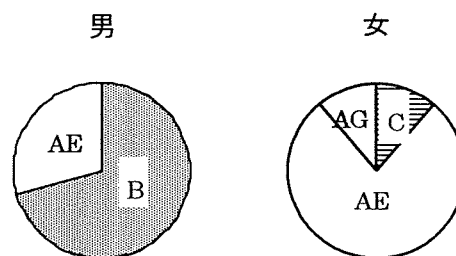


図 2. 新潟県で採取されたウイルスのサブタイプ



「北海道地区における薬剤耐性 HIV-1 調査体制確立のための研究」

分担研究者 小池 隆夫 北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座・第二内科 教授
研究協力者 千葉 仁志 北海道大学医学部保健学科検査技術科学専攻 教授
吉田 繁 北海道大学医学部保健学科検査技術科学専攻 助手

研究要旨

2003年から2006年度の北海道大学病院を受診した新規 HIV 感染者は52名であり、そのうち薬剤耐性 HIV は3名（5.8%）に確認された。耐性変異はプロテアーゼ領域 M46L、逆転写酵素領域 V106A, V108I であり、それ以外にもプロテアーゼ領域のマイナー変異が多数の患者に認められた。しかしながら、多剤耐性に関わる変異を有する HIV は検出されなかった。

A. 研究目的

本邦における薬剤耐性 HIV-1 の発生動向を把握のため、北海道ブロックにおける新規 HIV 感染者数の動向ならびにそれら患者の HIV-1 薬剤耐性の解析を目的とする。

B. 研究方法

北海道ブロックにおける2003-2006年度の新規 HIV 感染者数を調査する。調査期間中に認められた新規 HIV 感染患者の血清および血球を凍結保存し、血清中に存在する遊離 HIV-1 の pol, gag, env 領域の遺伝子配列を解析し、薬剤耐性ならび subtype の決定をおこなう。

（倫理面への配慮）

本研究は北海道大学医学研究科・医学部医の倫理委員会により承認されたものであり、担当医から患者へ研究の説明を行い、同意書に署名をしていただいた患者について検査をおこなっている。情報保護に関してはアクセスユーザー制限、パスワード設定、匿名コード化をおこなっている。

C. 研究結果

2003-2006年度に北大病院を受診した新規 HIV 感染者は52名（平均年齢39歳）であった。性別は男性50名、女性2名であり、推定感染経路は MSM が31名（約60%）と最も多く、ついで異性間15名（約29%）であった。国籍は2名が外国人（男性、異性間）であった。

薬剤耐性変異の解析（IAS-USA fall2006）では3名に薬剤耐性変異を有する HIV を検出した。その変異はプロテアーゼ領域 M46L、逆転写酵素領域 V106A, V108I をそれぞれ単独で有する変異であった。プロテアーゼ領域のマイナー変異はほとんどの患者で確認された。多剤耐性に関係する耐性変異は確認されなかった。subtype の解析は B が86%、CRF01_AE が10%、C が4%であった。

D. 考察

2003-2006年度に北大病院を受診した新規 HIV 感染者は52名であり、2003-2006年9月までにエイズ動向委員会が報告した北海道ブロックにおける新規 HIV 感染者数は43名であることから北海道ブロックの新規感染者の大部分が北大病院受診者であり、本研究結果が北海道ブロックの状況を反映していると考えられる。新規感染者数は2005年以降急増しており、保健所で確認された患者が増えたことが注目された。このことは純粹に感染者が増加している、保健所でのスクリーニングの機能がより高まっている等が考えられる。患者背景では MSM が60%と最も多く、女性の感染者は少ない、初診時年齢の若年化、CD4 値の低下が経年的に見られ、日本全体の患者背景とさほど相違は無いと考えられるが、初診時に AIDS 発症である患者も増加傾向にあることが注目される。薬剤耐性 HIV は3/52（5.8%）に検出された。変異はプロテアーゼ領域 M46L、逆転写酵素領域 V106A, V108I であった。M46L は IDV のメジャー変異（IAS-USA fall 2006 で判定）であり、stanford drug resistance database では SQV を除くプロテアーゼ阻害剤の低度～中等度耐性に関わる変異であり、薬剤使用により誘導される変異である。V106A, V108I は共に非核酸系逆転写酵素阻害剤の耐性変異（IAS-USA fall 2006 で判定）であり、stanford drug resistance database では V106A は NVP に高度、DLV に中等度、EFV に低度耐性変異である。V108I は非核酸系逆転写酵素阻害剤に低度耐性を示す変異である。これらはの薬剤は2000年以降に使われ始めた薬剤であり、それ以前の逆転写酵素阻害剤に対する変異は確認されなかった。いずれも薬剤使用により選択される変異であるため、2000年以降に薬剤治療をおこなった感染者から感染した可能性が強いと思われる。また、多くの患者で耐性

と直接関係がない2次的な変異、マイナー変異が確認されたが、これらは polymorphism の可能性も高いため、耐性 HIV の伝播に有益な情報であるかは今後の検討課題である。北海道ブロックでの薬剤耐性 HIV 検出頻度は 5.8%であり、本研究班での 4.0%と同等であった。しかしながら、検出頻度の高い変異である逆転写酵素領域 215 番の revertant は検出されず、他ブロックとは異なる傾向であった。Subtype は B が大部分を占め MSM が多く、CRF01_AE は異性間感染が多い傾向であった。北海道ブロックは他ブロックと比較し患者数は少ないが、年々、新規感染者数は増加傾向を示している。今後も薬剤耐性 HIV の拡散を抑制するためには継続調査が必要であり。薬剤耐性 HIV アウトブレイクの予測、薬剤耐性変異と耐性 HIV 伝播の関係や意義が更に明らかになるとと思われる

E. 結論

- 1) 北海道ブロックにおいても患者数は少ないものの、年々、新規感染者数は増加している。
- 2) 2003-2006 年に確認された薬剤耐性 HIV の出現頻度は 5.8%であった。
- 3) 検出された耐性変異はプロテアーゼ阻害剤 (M46L), 非核酸系逆転写酵素阻害剤 (V106A, V108I) に対する変異であり、比較的新しい薬剤に対する耐性 HIV が伝搬していた。
- 4) rt215 revertant は検出されなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 52 回 日本臨床検査医学会総会

「北大病院での新規 HIV 感染者における薬剤耐性 HIV 感染状況」

吉田 繁

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金(エイズ対策研究事業)
総合分担研究報告書

神奈川県における薬剤耐性 HIV-1 調査体制確立のための研究

分担研究者 近藤真規子 (神奈川県衛生研究所 微生物部 主任研究員)
研究協力者 宮崎裕美、今井光信 (神奈川県衛生研究所)

研究要旨

新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性 HIV-1 の出現状況を調査するため、2006 年の 1 年間に神奈川県内の医療機関に来院した未治療 HIV 感染者 50 名について薬剤耐性変異の解析を行った。

IAS-USA(2006) リストに基づき薬剤耐性変異の有無を調べた結果、RT 領域において核酸系逆転写酵素阻害剤である AZT の耐性変異 T215Y のリバータント T215C に加え M41L 変異を持つ症例が 1 例認められた。この症例は、男性同性間性行為による感染で、日本人、サブタイプ B であった。プロテアーゼ領域にプロテアーゼ阻害剤である TPV の major 変異、L33F が 2 名に認められた。これらは 2 名ともタイ国籍、サブタイプ AE であった。しかし、日本やタイにおいて TPV の使用はほとんど無く、L33F はサブタイプ AE の多型の一つである可能性が高いと考えられた。

A. 研究目的

HIV-1 感染者の治療は多剤併用療法 (HAART) の普及により飛躍的に進歩し、HIV-1 感染者の病態の進行をコントロールすることが可能となった。その一方で、薬剤の長期投与に伴い薬剤耐性 HIV-1 株を保有する感染者が増加し、新規感染者が薬剤耐性株に感染している症例も見つかってきている。欧米では新規感染者の数%から十数%が何らかの抗 HIV 薬に対する耐性変異が認められると報告されており、日本においても薬剤耐性 HIV-1 株の動向が注目されている。

我々は、新規感染者における薬剤耐性 HIV-1 の発生・伝播の動向について全国規模での調査に参加し、主として神奈川県内の HIV 感染者について薬剤耐性変異の解析を行った。

B. 研究方法

1) 調査対象

2006 年の 1 年間に神奈川県内の医療機関に来院した未治療の HIV 感染者 50 名。

2) HIV-1 薬剤耐性変異の解析

患者血漿より HIV-1 遺伝子を抽出 (ハイピュア Viral RNA 抽出キット: ロシユ・ダイアグノスティックス) し、RT nested PCR 法 (One step RNA PCR キット: タカラバイオ) により PR および RT 領域を増幅後、ダイレクトシーケンシング法 (BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit: アプライドバイオシステムズ) により塩基配列を決定した。PCR プライマーおよび PCR 条件は国立感染症研究所の方法に従った。

IAS-USA (2006) リストを基にプロテアーゼ阻害剤

(PRI: IDV, LPV, RTV, SQV, NFV, FAPV, ATV, DRV, TPV)、核酸系逆転写酵素阻害剤 (NRTI: AZT, d4T, ddI, 3TC, ABC, TDF, FTC)、非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI: DLF, Efavirenz, NVP) に関する薬剤耐性変異の解析およびサブタイプを決定した。

また、同時にスタンフォード大学のデータベース (インターネット上で公開) を用い各種抗 HIV 薬に対する耐性度の判定と PR、RT 領域および env C2V3 領域のサブタイプ型別を行った。スタンフォード大学データベースの耐性度は susceptible、potential low-level resistance、low-level resistance、intermediate resistance、resistance の 5 段階評価で示される。

(倫理面への配慮)

主治医から患者に研究内容について説明を行い、研究への同意の得られた症例について研究を実施した。患者名はすべて記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。尚、本研究は当研究所の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

IAS-USA (2006) リストに基づき薬剤耐性変異について解析した結果、PR 領域において、50 名中 2 名に TPV の major 変異である L33F が検出された (表 1、表 2)。スタンフォード大学データベースでの解析の結果、これら 2 名の TPV に対する耐性度は low-level resistance (5 段階評価の中間) と判定された。

また、50 名のほとんどになんらかの Minor 変異が認められており、サブタイプ B では L63P、V77I、I93L の変異が、サブタイプ B 以外では I13V、M36IL、H69K